جذب بیولوژیک فلزات سنگین توسط قارچ *Aspergillus niger*

- **ملیحه امینی***: گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، صندوق‌پستی: ٣٦٤
- **حبیب اله یونسی**: گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع‌طبیعی و علوم‌دریایی، دانشگاه تربیت‌مدرس، نور، صندوق‌پستی: ٦٤٤١٤-٣٥٦
- **محمدعلی ضیائی مدبونی**: گروه حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، صندوق‌پستی: ٥١٨

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۲

چکیده

فلزات سنگین در انواع مختلفی از جریان‌های صنعتی وجود دارند و باعث آلودگی محیط‌زیست می گردند. میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در اصلاح فاضلاب‌های آلوده دارند و جذب بیولوژیک به‌عنوان یک روش متداول برای بازیافت فلزات سنگین از فاضلاب بسیار مورد توجه بوده است. این تکنولوژی جالب توجه می‌تواند علاوه بر سلول‌های زنده، توسط سلول‌های مرده نیز اجرا گردد. در این مطالعه توانایی قارچ *Aspergillus niger* برای جذب کادمیم، نیکل و سرب از فاضلاب صنعتی بررسی و اثر فاکتورهای pH، غلظت توده زنده و غلظت اولیه سه فلز در محلول‌های جداگانه بر میزان درصد جذب این فلزات تعیین گردید. محدوده pH، غلظت توده زنده و غلظت اولیه فلزی به‌ترتیب ۸/۷-۱/۳، ۰/۷۵-۰/۰۱ گرم بر لیتر، ۳۷/۵-۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بودند. نتایج، ظرفیت جذب ۹۶/۱ درصد کادمیم, ۶۸/۲ درصد نیکل و ۹۳/۶ درصد سرب را در محلول‌های آبی نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست آمده pH ۵، غلظت توده زنده ۰/۳۸ گرم بر لیتر و غلظت فلز سنگین ۱۹ میلی‌گرم بر لیتر در یک فرآیند جذب به‌وسیله قارچ *A. niger* آماده‌سازی شده با سود، شرایطی مطلوب برای جذب بیولوژیک فلزات سنگین از فاضلاب‌های صنعتی می‌باشند.

کلمات کلیدی: قارچ *A. niger*، جذب بیولوژیک، فلزات سنگین، فاضلاب کارخانه‌های صنعتی

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:amini.malihe@gmail.com

مقدمه

آلودگی یک محیط آبی باعث تغییرات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک می‌شود که کیفیت آب را برای مصرف انسان نامناسب می‌سازد (Barros و همکاران، ۲۰۰۷). آلودگی فلزات معضلی جهانی است و مقدار آن‌ها در نتیجه فعالیت کارخانه‌ها به‌طور پیوسته افزایش می‌یابند و به‌علت سمیت، تهدیدی جدی برای محیط‌زیست و سلامت عمومی به‌شمار می‌روند (Bahadir و همکاران، ۲۰۰۷). سرب، جیوه، مس، کادمیم، روی، نیکل و کروم بیش‌ترین آلاینده‌های یافت شده در جریان‌های آبی خروجی از کارخانه‌ها و حتی در غلظت پایین، برای موجودات سمی می‌باشند (Chen و همکاران، ۲۰۰۷). کادمیم به‌علت سمیت بالا و قابلیت تحرک در طبیعت مورد توجه است (Lebeau و همکاران، ۲۰۰۲) و به‌عنوان عامل پوکی استخوان، عدم کارایی ریه، صدمه به کبد و ایجاد تنش در انسان شناخته شده است. سرب نیز فوق‌العاده سمی است و باعث صدمه به سیستم عصبی و کلیه خصوصاً در بچه‌ها می‌گردد. فلز نیکل هم ماده‌ای سرطان‌زا و سمی است، بنابراین در بسیاری از کشورها قوانینی در رابطه با میزان فلزات سنگین در فاضلاب‌های صنعتی قبل از رهاسازی به طبیعت وجود دارد (Chen و همکاران، ۲۰۰۷). منابع اصلی رهاسازی فلزات کادمیم، نیکل و سرب در فاضلاب آبکاری، ساخت پلاستیک، رنگ، خودروسازی، معدن کاوی و تصفیه فلزات هستند.

روش‌های مختلف اصلاح فاضلاب‌های آلوده به فلزات سنگین در سال‌های اخیر توسعه یافته‌اند که باعث کاهش مقدار فاضلاب تولیدی و بهبود کیفیت جریان آب خروجی می‌گردند. رسوب شیمیایی، تبخیر، تعویض یونی، جداسازی با غشا، انعقاد، شناور شدن، تعویض یونی و پوشش فیلترکننده برای حذف فلزات سنگین قابل استفاده و دارای محدودیت‌هایی نیز در حالت کاربردی هستند (Kurniawan و همکاران، ۲۰۰۶). فرآیند جذب سطحی به‌علت قابلیت اجرا با هزینه و شرایط خوب و استفاده از مواد با توان بیولوژیک برای حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه بوده است علاوه بر آن عدم تولید ترکیبات ثانویه احتمالاً سمی نیز در فرآیند جذب سطحی دارای اهمیت قابل توجهی می‌باشد (Mungasavalli و همکاران، ۲۰۰۷).

گونه‌های قارچ *Aspergillus* دارای توانایی جذب فلزاتی مانند مس، کادمیم، سرب، آهن، نیکل، نقره، رادن و اورانیم می باشند (Mungasavalli و همکاران، ۲۰۰۷) و *A. niger* برای تولید آنزیم و بازیافت فلزات سنگین استفاده می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۰۶) . در رابطه با اثر استفاده از روش‌های آماده‌سازی، kapoor و Viraraghavan (۱۹۹۸) و در ادامه Kapoor و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که آماده‌سازی ظرفیت جذب توده زنده را برای همه فلزات افزایش می‌دهد. استفاده از سلول‌های مرده نیز مزایای زیر را دارند: ۱) عدم محدودیت در بازیافت فلز به‌علت سمیت فلز ۲) عدم نیاز به تجهیزات برای رشد محیط‌کشت ۳) سهولت بازجذب یون‌های فلزی و استفاده دوباره از توده زنده.

هدف از تحقیق حاضر، استفاده از توده زنده آماده‌سازی شده *A. niger* برای تعیین توانایی جذب یون‌های فلزات کادمیم, نیکل و سرب از محیط‌های آبی است و اثرتغییرات pH، غلظت توده زنده و غلظت اولیه فلزات در محلول نیز بر توانایی جذب موثر به‌وسیله قارچ بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم

قارچ *A. niger* (DSMZ 823) از بانک میکروبی Sammlung von Deutsche) (GmbH) (Mikroorganismen und Zellk ulturen آلمان خریداری شد. نمونه مورد نظر به‌صورت یخ خشک (freeze dry) بود و برای استفاده در آزمایشات به محیط کشت استریل جامد (potato-dextrose agar) (PDA) انتقال داده شد. پس از گذشت زمان مناسب که قارچ به حد مطلوبی از رشد در محیط کشت PDA رسید، نمونه‌ها به یخچال منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تهیه محیط کشت مایع برای رشد قارچ

پس از رشد قارچ در محیط کشت جامد، محیط کشت مایع شامل (گرم بر لیتر): ساکارز (Sucrose) ۵۰؛ نیترات آمونیوم (NH_4NO_3) ۲؛ فسفات پتاسیم (KH_2PO_4) ۰/۱۵؛ سولفات منیزیم ($MgSO_4$) ۰/۱۵ تهیه گردید (Amini و همکاران، ۲۰۰۸). pH در محیط رشد مایع ۵/۵ بود که قبل از اتوکلاو تنظیم گردید. کشت نمونه‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور انجام شدند.

تولید توده زنده

پس از گذشت ۵ روز، جداسازی قارچ از محیط کشت انجام و نمونه به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (Goksungur و همکاران، ۲۰۰۵). سپس از الک با ۱۰۰ mesh عبور داده شد تا پودری کاملاً همگن به‌دست آمد. قارچ در محلول جوشان ۰/۵ نرمال سود ۱۵ دقیقه جوشانده و در سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. برای حذف سود، توده زنده با آب مقطر دیونیزه شستشو داده شد. پس از آن خشک، آسیاب و مجدداً از الک ۱۰۰ mesh عبور داده شد (Dursun و همکاران ۲۰۰۶).

تهیه محلول فلزات سنگین (Ni^{2+}- Cd^{2+} -Pb^{2+})

محلول مادر (Stock solution) فلزات سنگین در آزمایشات ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که از نمک هر فلز به‌دست آمد. نمک مورد استفاده برای تهیه محلول فلزات سرب، نیکل و کادمیم به‌ترتیب نمک نیترات سرب $PbNO_3$، کلریدنیکل $NiCl_2$ و سولفات کادمیم $CdSO_4$ بودند. محلول‌های تهیه شده برای انجام آزمایشات ۱۰۰ میلی‌لیتر بوده و در داخل ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار گرفتند.

شرایط و طراحی آزمایشات

برای تعیین شرایط مطلوب حذف فلزات در رابطه با ۳ فاکتور pH، غلظت اولیه فلز سنگین و غلظت توده زنده (Preetha و همکاران، ۲۰۰۷؛ Bayraktar و همکاران، ۲۰۰۱) سه آزمایش با تغییر pH ۱/۳، ۵ و ۸/۷ ؛ سه آزمایش با غلظت اولیه مختلف ۰/۵، ۱۹ و ۳۷/۵ میلی‌گرم برلیتر در محلول برای هر یک از فلزات کادمیم، نیکل و سرب و سه آزمایش با مقدار توده زنده متفاوت ۰/۰۱ ، ۰/۳۸ و ۰/۷۵ گرم برلیتر انجام شدند. در هر سری آزمایشات، غیراز فاکتور متغیر دو فاکتور دیگر ثابت بودند. همه آزمایشات در سه نوبت تکرار و میانگین به‌عنوان نتیجه نهایی گزارش گردید. پس از انجام آزمایشات، با توجه به میزان ظرفیت جذب فلز از محلول، شرایط بهینه حذف فلزات یافت شدند.

انجام آزمایشات جذب بیولوژیک

نمونه‌گیری در هر آزمایش به‌مدت ۴ ساعت انجام شد و نمونه‌های فیلتر شده پس از رقیق‌سازی در دستگاه جذب اتمی آنالیز گردیدند. برای محاسبه مقدار R که میزان حذف فلز توسط توده زنده قارچ است، از معادله زیر استفاده شد (R درصد بازیافت فلز توسط توده زنده، P_0 غلظت اولیه یون فلزی، میلی‌گرم بر لیتر و Pe غلظت نهایی یون‌های فلزی است، میلی‌گرم بر لیتر):

$$R = 100 \times \frac{P_0 - P_e}{P_0}$$

تعیین شاخص های قارچ مورد استفاده

۱ گرم توده زنده قارچ به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا وزن ثابت گردید. پس از گذشت زمان ذکر شده، دوباره توزین گردید و محاسبه مقدار رطوبت و ماده خشک صورت گرفت. توده زنده خشک شده در مرحله قبل، در دمای ۵۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ ساعت داخل کوره قرار داده شد و بعد از آن محاسبه درصد خاکستر نمونه انجام پذیرفت. محاسبه درصد رطوبت، ماده خشک و خاکستر با استفاده از روش‌های استاندارد APHA (۱۹۹۸) گرفت. مقدار نیتروژن نمونه و محاسبه پروتئین با ضرب عدد حاصله در ۶/۲۵، پس از هضم نمونه با استفاده از دستگاه کجلدال انجام شد. خصوصیات قارچ *Aspergillus niger* در جدول ۱ آورده شده است. تمام آزمایشات فوق‌الذکر سال ۱۳۸۵ در آزمایشگاه محیط‌زیست دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس (شهرستان نور) انجام شده‌اند.

جدول ۱: خصوصیات توده زنده قارچ با *Aspergillus niger*

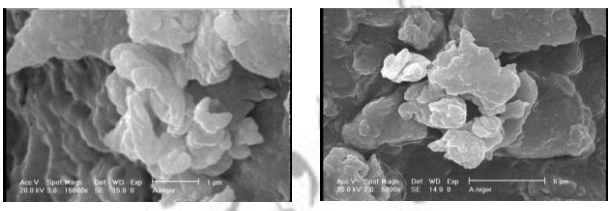
جزء ترکیب‌دهنده	قبل از درمان	بعد از درمان
اندازه ذرات	۱۰۰ mesh	۱۰۰mesh
رطوبت	٪۷/۸۸	٪۹
ماده خشک	٪۹۸/۷۵	٪۹۸/۳۵
خاکستر	٪۱/۲۵	٪۱/۶۵
نیتروژن کل	٪۳/۲۳	٪۲/۷۱
پروتئین	٪۲۰/۲	٪۱۶/۹۵

نتایج

اثر آماده سازی توده زنده بر جذب فلزات سنگین

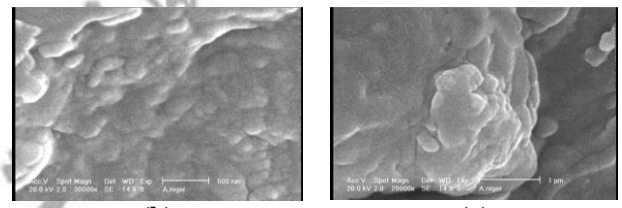
شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از *A. niger* را قبل از آماده‌سازی و شکل ۲ ساختار این سلول‌ها را بعد از آماده‌سازی نشان می‌دهند. با توجه به این دو شکل سطح داخلی جاذب بیولوژیک دارای چندین دیواره در دسترس برای جذب و خلل و فرج‌های ریز بود. هم‌چنین مکان‌های فعال با خلل و فرج‌های ریز قابل مشاهده روی لایه سطحی قارچ غیرزنده *A. niger* نیز این امکان را به‌وجود آوردند تا جذب بیولوژیک با سرعت بالاتری انجام گیرد. اندازه منافذ مورد نظر برای جذب بیولوژیک ۵ تا ۱۲ میکرومتر بودند که با تحلیل‌های میکروسکوپی نرم‌افزار SEM به‌دست آمدند.

نتایج تجزیه شیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ آمده است. طی نتایج حاصله میزان پروتئین (۰/۳±۴۷ درصد)، چربی (۰/۵±۲۰ درصد) و انرژی (۰/۱±۵ کیلوکالری در گرم) جیره‌ها در بین گروه‌های آزمایشی یکسان بود (۵). نتایج حاصل از شاخص‌های رشد ماهیان در جدول ۳ گزارش شده است.



(b) **(a)**

شکل۱: قارچ *A. niger* با روبش میکروسکوپ الکترونی(SEM) قبل از آماده‌سازی (الف) بزرگ‌نمایی۱میکرومتر، (ب) بزرگ‌نمایی ۱۰۰میکرومتر



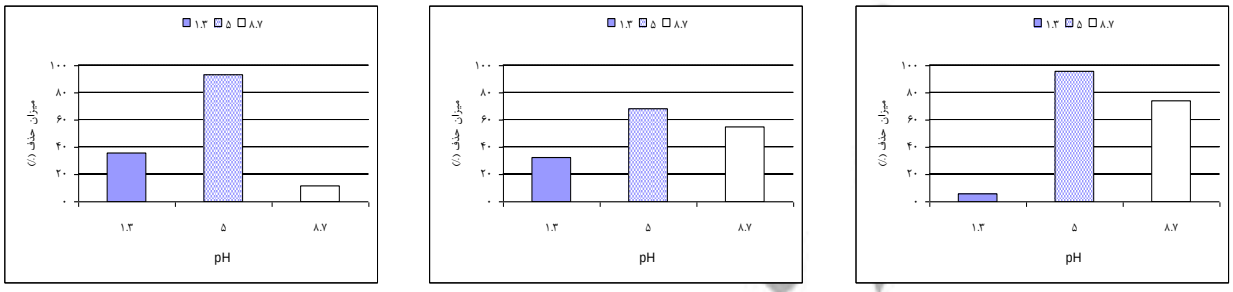
(b) **(a)**

شکل ۲ : قارچ *A. niger* با روبش میکروسکوپ الکترونی (SEM) بعد از آماده‌سازی (a) بزرگ‌نمایی ۲میکرومتر، (b) بزرگ‌نمایی ۵میکرومتر

اثر pH محلول بر جذب فلز توسط قارچ

بازیافت موثر یون‌های فلزی به‌شدت تحت تاثیر pH می‌باشد و تغییرات آن در محیط کشت بر مکان‌های جذب یون‌های فلزی در سطح سلول و ساختار شیمیایی فلز در آب تاثیر بالایی دارد (Dursun و همکاران، ۲۰۰۶). در این تحقیق اثر pH اولیه بر جذب یون‌های فلزی، در محدوده pH ۱/۳ تا ۸/۷ ارزیابی شده است. تاثیر تغییرات pH بر میزان غلظت یون‌های فلزی در (شکل ۳) آورده شده‌است. درآزمایشات بیش‌ترین میزان ظرفیت جذب فلزی در pH ۵ مشاهده شد. در pH ۱/۳ میزان جذب خیلی کم و درpH ۸/۷ نیز مقدار ظرفیت جذب قابل توجه ولی کم‌تر از مقدارpH ۵ بود. بنابراین تحت شرایط خیلی اسیدی به علت رقابت یون‌های H^+ با کاتیون‌های فلزات سنگین برای قرارگیری در سطح توده زنده جذب اندکی اتفاق می‌افتد. خصوصاً در pH ۱/۳ تقریباً هیچ جذبی مشاهده نگردید. میزان جذب کادمیم، نیکل و سرب در این pH به‌ترتیب مقدار ۵/۷، ۳۲ و ۳۶ درصد به‌دست آمد. درصد ظرفیت جذب *A. niger* زمانی که pH محلول به سمت مقادیر بالاتر تغییر می‌یابد، به‌تندی افزایش می‌یابد. به‌طوری که در pH ۵ حذف

این فلزات تا مقدار ۹۶/۱، ۶۸/۲ و ۹۳/۶ درصد به‌ترتیب برای کادمیم، نیکل و سرب گزارش شده‌است. با تغییر pH محلول به مقادیر بالاتر، یون‌های فلزی به‌دلیل غلظت بالای یون‌های OH^- رسوب کردند و در نتیجه مقدار ظرفیت جذب کاهش یافت و مقدار حذف ۷۴/۲، ۵۴/۷ و ۱۲ درصد در pH ۸/۷ برای کادمیم، نیکل و سرب به‌دست آمد.

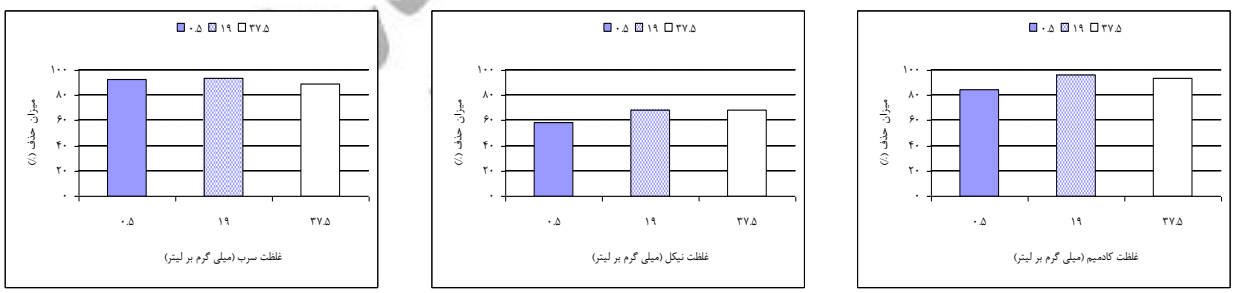


(c) (b) (a)

شکل ۳: اثر تغییرات pH در محلول بر میزان بازیافت یون‌های کادمیم (a)، نیکل (b) و سرب (c)

اثر غلظت اولیه یون فلزی در محلول روی میزان بازیافت فلزات کادمیم، نیکل و سرب

اثر غلظت فلزات بر حذف فلزات توسط *A. niger* در محدوده ۰/۵ – ۳۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر، انجام شد (شکل ۴). حداکثر ظرفیت جذب یون‌های فلزی در ۱۹ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. مقدار یون فلزی جذب شده به‌ازای واحد جرم جاذب در ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر پایین بود (کادمیم ۸۵، نیکل ۵۷/۳ و سرب ۸۴/۳ درصد) و در محلول حاوی ۱۹ میلی‌گرم بر لیتر فلز، میزان جذب افزایش یافت و مقادیر ۹۶/۱، ۶۸/۲ و ۹۳/۶ برای کادمیم، نیکل و سرب مشاهده شد. سپس با افزایش غلظت یون‌های فلزی (۳۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر)، ظرفیت جذب قابل توجه ولی نسبت به مرحله قبل کاهش یافت و ۹۳/۳، ۶۷/۲ و ۸۹/۳ درصد برای کادمیم، نیکل و سرب به‌دست آمد. برای جذب مطلوب یون‌های فلزات سنگین، لازم است تا در جریان‌های آبی غلظت یون‌های فلزی زیاد رقیق‌سازی نگردد. این موضوع توانایی بهتر توده زنده برای جذب فلزات را در غلظت‌های بالاتر نشان می‌دهد و کاربرد این شرایط را برای فاضلاب‌های آلوده تایید می‌نماید.

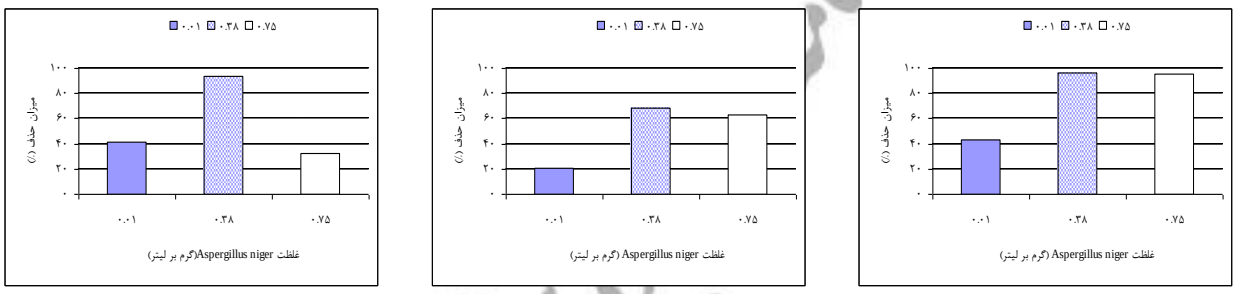


(c) (b) (a)

شکل ۴: اثر تغییرات غلظت یون‌های فلزی در محلول بر میزان بازیافت یون های کادمیم (a)، نیکل (b) و سرب (c)

اثر غلظت توده زنده بر جذب فلزات سنگین Cd^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}

غلظت توده زنده پارامتری مهم در تعیین ظرفیت جذب یون‌های فلزی است. در این مطالعه، محدوده غلظت توده زنده در محلول‌ها ۰/۰۱ – ۰/۷۵ ۰گرم در لیتر در نظر گرفته شد. میزان حذف فلزات سنگین در مقدار پایین توده زنده، کم بود و در غلظت *A. niger* ۰/۰۱گرم در لیتر برای کادمیم، نیکل و سرب درصد حذف ۴۳/۲، ۲۱/۱ و ۴۱/۶ مشاهده شدند. افزایش در حذف یون‌های فلزی با افزایش غلظت توده زنده از ۰/۰۱ به ۰/۳۸ اتفاق افتاد و در غلظت بالای توده زنده (۰/۷۵) نیز، کاهش در مقدار ظرفیت جذب یون‌های فلزی مشاهده شد به طوری‌که درصد حذف هر یک از فلزات مورد نظر از مقادیر مطلوب ۹۶/۱، ۶۸/۲ و ۹۳/۶ تا حد ۹۵، ۶۲/۸ و ۴۳/۱ درصد برای کادمیم، نیکل و سرب کاهش یافت که می‌تواند در ارتباط با دانه دانه شدن و متراکم شدن توده زنده و مقدار بالای آن در محیط کشت باشد (Selatnia و همکاران، ۲۰۰۴a). تاثیر تغییرات توده زنده اضافه شده به محلول در شکل ۵ قابل مشاهده است.



(a) **(b)** **(c)**

شکل ۵: اثر تغییرات مقدار توده زنده مورد استفاده در محلول بر میزان بازیافت یون‌های کادمیم (a)، نیکل (b) و سرب (c)

بحث

اثر آماده سازی توده زنده بر جذب فلزات سنگین

آماده‌سازی توده زنده *A. niger* با هیدروکسیدسدیم به‌طور قابل‌توجهی میزان جذب کادمیم، نیکل و سرب را افزایش می‌دهد (Kapoor و همکاران، ۱۹۹۹؛ Kapoor و Viraraghavan، ۱۹۹۷). بنابراین *A. niger* آماده‌سازی شده برای مطالعه حاضر استفاده شد و نتایج، مقدار حذف بالای این فلزات را نسبت به نمونه فاقدآماده‌سازی نشان دادند. البته روش‌های دیگر آماده‌سازی نیز اثرات مثبتی بر میزان جذب فلزات سنگین توسط توده زنده مورد نظر دارند که ممکن است به‌علت قابل‌رویت شدن مکان‌های قرارگیری فلزات سنگین در دیواره سلولی باشد (Kapoor و Viraraghavan، ۱۹۹۷؛ Akthar و همکاران، ۱۹۹۶). Huang و Huang (۱۹۹۶) معتقد بودند که افزایش در ظرفیت جذب پس از آماده‌سازی توده زنده ممکن است به‌علت بازیافت آلودگی‌های سطحی و افزایش مکان‌های در دسترس برای جذب یون‌های فلزی باشد. روش آماده‌سازی با سود باعث افزایش ظرفیت جذب سرب توسط توده زنده *Botrytis cinerea* نسبت به توده زنده زنده از ۳۰ میلی‌گرم برگرم به ۱۰۷ میلی‌گرم برگرم در حالی گردید که غلظت اولیه سرب ۳۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌مترمکعب بود (Akar و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین در فرآیند حذف فلزات سنگین استفاده از توده زنده *A. niger* آماده‌سازی شده به‌علت ایجاد شرایط مناسب‌تر و راحتی کار سودمند خواهد بود.

اثر pH در محلول بر جذب فلزات کادمیم، نیکل و سرب توسط قارچ

مطالعات زیادی نشان داده‌اند که بحرانی‌ترین پارامتر در حذف فلزات سنگین توسط جاذب، pH اولیه محیط کشت است که بر مکان قرارگیری فلزات در سطح جاذب و حالت شیمیایی فلز در آب تاثیر بالایی دارد. گروه‌های عاملی مانند اسید ضعیف کربوکسیلیک(R-COOH)، فسفات (PO_4^{3-}) و آمین ($R\text{-}NH_2$) در دیواره سلولی *A. niger* ترکیبات قابل مشاهده در جایگاه‌های جذب فلزات سنگین هستند (Dursun و همکاران، ۲۰۰۶؛ Akthar و همکاران، ۱۹۹۶). براساس مطالعات Kapoor و همکاران (۱۹۹۹) pH پایین (کم‌تر از ۴) مانع از بازیافت موثر فلزات سنگین از محلول می‌گردد، که ممکن است در نتیجه

تراکم بار مثبت روی مکان‌های قرارگیری فلزات سنگین و غلظت بالای پروتون‌ها در محلول باشد. با افزایش pH، تراکم بار منفی روی سطح سلول به علت تغییر شکل و کاهش پروتون‌ها در مکان‌های قرارگیری فلزات سنگین، بیش‌تر می‌شود و بنابراین میزان جذب افزایش می‌یابد (Reed و Arunachalam، ۱۹۹۴؛ Huang و Ostovic، ۱۹۷۸).

جذب کادمیم به‌وسیله توده زنده مرده *Pseudomonas aeruginosa* PU_{21} ، حداکثر ظرفیت جذب را در pH ۶ نشان داد (Chang و همکاران، ۱۹۹۷). هم‌چنین pH مناسب برای جذب بهینه کادمیم به وسیله *Sphingomonas paucimobilis* در محدوده ۵ تا ۶ گزارش شده‌است (Tangaromsuk و همکاران، ۲۰۰۲). Congeevaram و همکاران (۲۰۰۷)، نیز بیش‌ترین حذف نیکل را در pH ۵ برای *Aspergillus* sp. ۹۰ درصد و برای *Micrococcus* sp در pH ۷، ۵۵ درصد گزارش کردند. Hasan و همکاران (۲۰۰۰) نیز بیش‌ترین مقدار بازیافت نیکل را در محدوده pH ۴/۵ تا ۵/۵ گزارش کردند. در رابطه با فلز سرب نیز Jianlong و همکاران (۲۰۰۱) درصد حذف این فلز را توسط قارچ *Aspergillus* sp در pH ۶ ۱۰۰٪ بیان کردند. این نتایج، حذف یون‌های این سه فلز را در مقدار pH مطلوب حدود ۵ تایید می‌نمایند و هم‌چنین نشانگر کاهش درصد بازیافت یون‌های فلزی با افزایش در مقدار pH مطلوب، می‌باشند.

اثر غلظت اولیه یون های فلزی بر جذب فلزات توسط قارچ

در رابطه با اثر غلظت اولیه یون‌های فلزی بر میزان جذب فلز توسط میکروارگانیسم‌ها پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که مقدار فلز جذب شده به ازای واحد جرم توده زنده زمانی افزایش می‌یابد که غلظت اولیه یون‌های فلزی در محلول زیاد شود که ممکن است در نتیجه اشباع مکان‌های فعال توده زنده باشد و منجر به حداکثر ظرفیت جذب یون‌های فلزی توسط توده زنده گردد (Selatnia و همکاران، ۲۰۰۴a). Baldrian (۲۰۰۳) و Guibal و همکاران در سال ۱۹۹۲ بیان کردند که افزایش جذب یون‌های فلزی هم‌زمان با فزونی غلظت اولیه آن‌ها، نتیجه افزایش فعل و انفعالات الکترواستاتیک برای قرارگیری یون‌های فلزی است. جذب سطحی فلزات وابسته به پروتونه شدن گروه‌های عاملی مانند کربوکسیلیک، فسفات و آمین در دیواره سلولی می‌باشد (Fourest و Volesky، ۱۹۹۷؛ Fourest وRoux، ۱۹۹۲). مقدار یون‌های فلزی در محلول‌های آزمایشی برای حذف فلزات سنگین از فاضلاب توسط دیگر پژوهشگران مختلف هستند. Selatnia و همکاران (۲۰۰۴b) غلظت اولیه یون‌های نیکل را در محلول ۱۰ تا ۶۰۰ میلی‌گرم برلیتر استفاده کردند و حداکثر ظرفیت جذب را در بالاترین مقدار یون‌های فلزی (۶۰۰ میلی‌گرم درلیتر) به‌دست‌آوردند. بنابراین محدودیت جذب یون‌های فلزی در غلظت‌های بالا کم‌تر از غلظت‌های خیلی پایین یون‌ها می‌باشد و با توجه به آلودگی زیاد فاضلاب کارخانه‌ها و غلظت بالای فلزات در آب، استفاده از توده زنده میکروارگانیسم‌ها برای جذب فلزات موثر و سودمند می‌باشد.

اثر غلظت توده زنده بر میزان جذب

تغییرات ظرفیت جذب با توجه به تجمع بالای سلولی در غلظت‌های بالای توده زنده و کاهش مکان‌های فعال برای جذب فلزات سنگین قابل توضیح خواهدبود (Selatnia و همکاران، b ۲۰۰۴). Barros و همکاران (۲۰۰۳) نیز با قارچ *A. niger* مقدار حذف کادمیم را ۸۴ درصد گزارش کردند. مقادیر مورد نظر در مقایسه با ظرفیت جذب ۹۸ درصد حذف فلز کادمیم که در مقدار توده زنده ۰/۳۸ گرم در لیتر در مطالعه کنونی در مورد قارچ *A. niger* مشابه می‌باشد و درستی نتایج کنونی را تایید می‌نماید. درمورد نیکل، مطالعات Congeevaram و همکاران (۲۰۰۷) در غلظت توده زنده ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر با استفاده از میکروارگانیسم *Micrococcus*. sp درصد حذف را در حد ۵۵٪ ذکر کردند که توانایی بالاتر قارچ حاضر را برای حذف یون‌های نیکل در ۶۸٪ نشان می‌دهد. Svecova و همکاران (۲۰۰۶) نیز حذف یون‌های سرب از محلول حاوی ۰/۳ گرم در لیتر توده زنده *Penicillium oxalicum* را ۸۵٪ را گزارش کردند و مقدار حذف در محیط کشت حاوی بیوماس بیشتر کاهش می‌یافت که کارایی بالاتر بیوماس را در مقادیر پایین برای رسیدن به حداکثر درصد حذف یون‌های فلزی نشان می‌دهد و نتایج مطالعه کنونی نیز آن را تایید می‌نماید.

در این مطالعه، *A. niger* برای حذف فلزات کادمیم، نیکل و سرب به‌عنوان عناصری با سمیت بالا در محیط‌زیست استفاده شد. توده زنده *A. niger* جاذبی موثر و مقادیر بهینه حذف فلزات در pH ۵، غلظت توده زنده ۰/۳۸ گرم در لیتر و غلظت اولیه یون‌های فلزی ۱۹ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمدند. حداکثر حذف یون‌های فلزی در شرایط بهینه، ۹۸/۲، ۶۸/۲ و ۹۳/۶ درصد در مورد کادمیم، نیکل و سرب به‌دست آمدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که این روش حذف یون‌های فلزی (حذف بیولوژیک) مورد تایید از نظر تکنولوژیکی

و دارای صرفه اقتصادی نسبت به روش‌های متداول مورد استفاده مانند تعویض یونی و رزین‌هاست.

منابع

1. **Akar, T.; Tunali, S. and Kiran, I., 2005.** *Botrytis cinerea* as a new fungal biosorbent for removal of Pb(II) from aqueous solutions. Biochem Eng Journal.25:227-235.
2. **Akthar, M.N.; Sastry, K.S. and Mohan, P.M., 1996.** Mechanism of metal ion biosorption by fungal biomass. BioMetals.9: 21-28.
3. **American Public Health Association (APHA). 1998.** Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edn. American Public Health Association Publications, Washington.
4. **Amini, M.; Younesi, H.; Bahramifar, N.; Zinatizadeh Lorestani, A.A.; Ghorbani, F.; Daneshi, A. and Sharifzadeh, M., 2008.** Application of Response Surface Methodology for Optimization of Lead Biosorption in an Aqueous Solution by *Aspergillus niger*. Journal of Hazard Mater.154:694 – 702.
5. **Bahadir, T.; Bakan, G.; Altas, L. and Buyukgungor, H., 2007.** The investigation of lead removal by biosorption: An application at storage battery industry wastewaters. Enzyme and Microb Tech.41:98-102.
6. **Baldrian, P., 2003.** Interactions of heavy metals with white-rot fungi. Enzyme and Microb Tech .32:78-91.
7. **Barros, A.J.M.; Prasad, S.; Leite, V.D. and Souza, A.G., 2007.** Biosorption of heavy metals in upflow sludge columns. Bioresource Tech.98:1418-1425.
8. **Barros Jńior, L.M.; Macedo, G.R.; Duarte, M.M.L.; Silva, E.P. and Lobato, A.K.C.L., 2003.** Biosorption of cadmium using the fungus *A. niger*. Brazilian Journal of Chem Eng .20:229-239.
9. **Bayraktar, E., 2001**. Response surface optimization of the separation of DL-tryptophan using an emulsion liquid membrane. Process Biochem. 37:169–175.
10. **Chang, J.S.; Law, R. and Chang, C.C., 1997.** Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* $PU_{21.}$ Water Res.31:1651-1658.
11. **Chen, J.P.; Wang, L. and Zou, S.W., 2007.** Determination of lead biosorption properties by experimental and modeling simulation study. Chem Eng Journal.131:209-215.
12. **Congeevaram, S.; Dhanarani, S.; Park, J.; Dexilin, M. and Thamaraiselvi, K., 2007.** Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. Journal of Hazardous Materials.146:270-277.
13. **Dursun, A.Y,, 2006.** A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of biosorption of copper(II) and lead(II) ions onto pretreated *A. niger*. Biochem Eng Journal.28:187-195.
14. **Fourest, E. and Roux, J.C., 1992.** Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. Applied Microb and Biotech.37:399-403.
15. **Fourest, E. and Volesky, B., 1997**. Alginate properties and heavy metal biosorption by marine algae. Applied Biochem and Biotech. 67:215-226.
16. **Guibal, E.; Roulph, C. and Le Cloirec, P., 1992.** Uranium biosorption by a filamentous fungus Mucor miehei pH effect on mechanisms and performances of uptake. Water Research. 26:1139-1145.
17. **Göksungur, Y.; Üren, S. And Güvenç, U., 2005.** Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. Bioresour. Technol.96:103-109.
18. **Hasan, S.; Hashim, M.A. and Gupta, B.S., 2000.** Adsorption of Ni(SO4) on Malaysian rubber-wood ash. Bioresource Tech.72: 153-158.
19. **Huang, C.P. and Ostovic, F.B., 1978.** Removal of Cadmium(II) by Activated Carbon Adsorption. Journal of the Environ Eng Division.104:863-878.
20. **Huang, C. and Huang, C.P., 1996.** Application of *Aspergillus oryze* and *Rhizopus oryzae* for Cu(II) removal. Water Research.30: 1985-1990.
21. **Jianlong, W.; Xinmin, Z.; Decai, D. and Ding, Z., 2001.** Bioadsorption of lead(II) from aqueous solution by fungal biomass of *A. niger*. Journal of Biotech.87:273-277.
22. **Kapoor, A. and Viraraghavan, T., 1997.** Heavy metal biosorption sites in *A. niger*. Bioresource Tech.61:221-227.
23. **Kapoor, A. and Viraraghavan, T., 1998.** Biosorption of heavy metals on *A. niger*: Effect of pretreatment. Bioresource Tech.63:109-113.
24. **Kapoor, A.; Viraraghavan, T. and Cullimore, D.R., 1999.** Removal of heavy metals using the fungus *A. niger*. Bioresource Tech. 70:95-104.

25. **Kurniawan, T.A.; Chan, G.Y.S.; Lo, W.H. and Babel, S., 2006.** Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. Chem Eng Journal.118: 83-98.
26. **Lebeau, T.; Bagot, D.; Jézéquel, K. and Fabre, B., 2002.** Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture, The Science of The Total Environ.291:73-83.
27. **Liu, Y.g.; Fan, T.; Zeng, G.m.; Li, X.; Tong, Q. and Ye, F., 2006.** Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solution by living *A. niger*. Transactions of Nonferrous Metals Society of China.16:681-686.
28. **Mungasavalli, D.P.; Viraraghavan, T. and Jin, Y.C., 2007**. Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *A. niger*: Batch and column studies, Colloids and Surfaces A: Physicochem and Eng Aspects. 301:214-223.
29. **Preetha, B. and Viruthagiri, T., 2007**. Application of response surface methodology for the biosorption of copper using *Rhizopus arrhizus*, Journal of Hazad. Mater.143: 506-510.
30. **Reed, B.E. and Arunachalam, S., 1994.** Use of Granular Activated Carbon Columns for Lead Removal. Journal of Environ Eng.120: 416-436.
31. **Selatnia, A.; Bakhti, M.Z.; Madani, A.; Kertous, L. and Mansouri, Y., 2004a.** Biosorption of Cd^{2+} from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. Hydrometallurgy. 75:11-24.
32. **Selatnia, A.; Madani, A.; Bakhti, M.Z.; Kertous, L.; Mansouri, Y. and Yous, R., 2004b.** Biosorption of Ni^{2+} from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead Streptomyces rimosus biomass, Mineral Eng. 17:903-911.
33. **Svecova, L.; Spanelova, M.; Kubal, M. and Guibal, E., 2006.** Cadmium, lead and mercury biosorption on waste fungal biomass issued from fermentation industry. I. Equilibrium studies, Separation and Purification Tech. 52: 142-153.
34. **Tangaromsuk, J.; Pokethitiyook, P.; Kruatrachue, M. and Upatham, E.S., 2002.** Cadmium biosorption by Sphingomonas paucimobilis biomass. Bioresource Tech.85: 103-105.

Biological biosorption of heavy metals by *Aspergillus niger*

- **Malihe Amini*:** Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, Jiroft University, P.O. Box:364, Jiroft, Iran
- **Habibollah Younesi:** Department of Environmental Science,Facultyof Natural Resources, Tarbiat Modarres University,P.O. Box:64414-356,Noor, Iran
- **Mohammad Ali Ziaei Madbuni:** Department of Entomology, Faculty of Agricultre, Vali-e-Asr Universit of Rafsanjan, P.O. Box:518, Rafsanjan, Iran

Received: May 2013 Accepted: September 2013

Keywords: *Aspergillus niger*, biosorption, heavy metals, industrial wastewater

Abstract

Heavy metals are present in different types of industrial effluents, being responsible for environmental pollution. Microorganisms play a significant role in bioremediation of heavy metal contaminated wastewater and biosorption has attracted the attention in recent years as an alternative to conventional methods for heavy metal removal from wastewater. In this study, potential of *A. niger* to biosorption of cadmium, nickel and lead from industrial wastewater effluent was investigated. The effect of pH, biomass dosage and initial concentration of the heavy metal on the removal of biosorption were examined. Range of pH, biomass dosage and initial concentration of the heavy metal (Cd^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}) in this software were 1.3-8.7, 0.01-0.75 g/l, and 0.5-37.5 mg/l, respectively. *A. niger* biomass pretreated by boiling in 0.5N NaOH solution for 15 min exhibited high cadmium, Nickel and Lead biosorption capacity about 96.1%, 68.2% and 93.6%, respectively. This research proved that with a pH of 5, biomass dosage of 3.8 g/l and heavy metal concentration of 19 mg/l a biosorption process with *A. niger* could be successfully used for heavy metal removal industrial wastewater.

* Corresponding Author's email: amini.malihe@gmail.com